

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

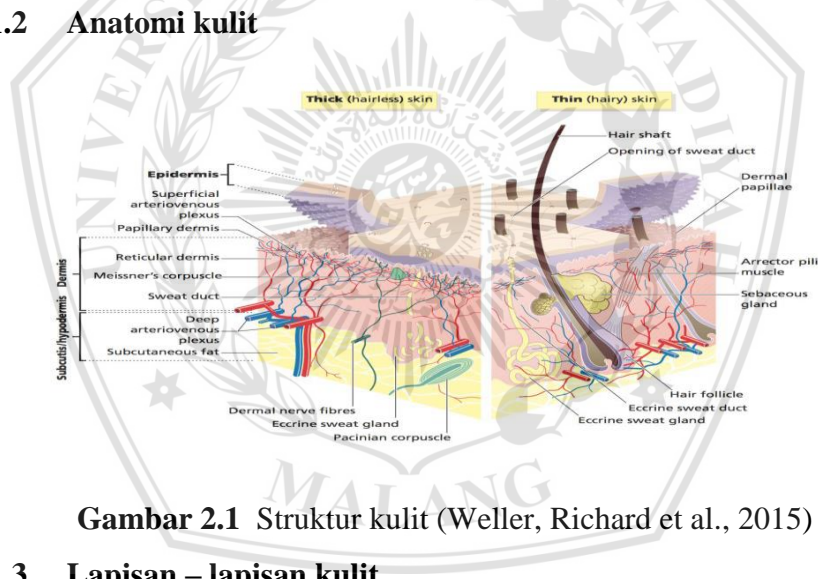
#### 2.1 Kulit

##### 2.1.1 Fungsi kulit

Kulit adalah organ tubuh manusia terbesar, terhitung sekitar 16% dari total berat badan. Peran vitalnya adalah mencegah hilangnya air dan komponen tubuh lainnya keluar dari dalam tubuh dan melindungi tubuh dari berbagai macam situasi lingkungan. Kulit juga memiliki fungsi kekebalan dan sensorik yang penting, membantu mengatur suhu tubuh dan mensintesis vitamin D (Odland GF, 1991).

Kulit manusia mempunyai ketebalan yang bervariasi yaitu, mulai dari 0,5 mm sampai 5 mm dengan luas permukaan sekitar 2 m<sup>2</sup> dan berat sekitar 10 kg jika dengan lemaknya atau 4 kg jika tanpa lemak (Robin et al., 2002).

##### 2.1.2 Anatomi kulit



**Gambar 2.1** Struktur kulit (Weller, Richard et al., 2015)

##### 2.1.3 Lapisan – lapisan kulit

Kulit terdiri atas 3 lapisan utama. Lapisan terluar yang melekat yaitu epidermis, dan di perkuat dengan jaringan ikat yang mendasarinya yaitu dermis. Di bawah kedua lapisan tersebut terdapat jaringan ikat longgar yang mengandung banyak lemak yaitu hypodermis (Tranggono dan Latifah, 2007).

Epidermis adalah lapisan epitel berlapis skuamosa berlapis yang terutama terdiri dari dua jenis sel: keratinosit dan sel dendritik. Keratinosit berbeda dari sel dendritik yang "jernih" dengan memiliki jembatan interseluler dan jumlah sitoplasma yang banyak dan stainable (Murphy, 1997).

1. Lapisan Tanduk (*stratum corneum*) terdiri sebagian besar atas keratin (protein yang tidak larut dalam air) dan sangat resisten terhadap pengaruh dari luar/bahan-bahan kimia. Hal tersebut berkaitan dengan fungsi proteksi dari kulit terhadap pengaruh dari luar.
2. Lapisan Jernih (*stratum lucidum*) merupakan lapisan tipis, bening, mengandung eleidin, sangat tampak jelas pada telapak tangan dan telapak kaki. Antara *stratum lucidum* dan *stratum granulosum* terdapat lapisan keratin tipis yang tidak dapat ditembus yaitu *rein's barrier* (Szakall).
3. Lapisan Berbutir-butir (*stratum granulosum*) tersusun atas sel-sel keratinosit yang berbentuk poligonal, berbutir kasar, dan berinti mengkerut. Dalam butir keratohyalin tersebut terdapat bahan logam (khususnya tembaga) yang menjadi katalisator proses pertandukan kulit.
4. Lapisan Malphigi (*stratum spinosum* atau *malphigi layer*) memiliki sel yang berbentuk kubus & berduri, berinti besar & oval, setiap sel berisi filamen-filamen kecil yang terdiri atas serabut protein.
5. Lapisan Basal (*stratum germinativum* atau membran basalis) pada lapisan ini terdapat sel-sel melanosit (sel-sel yang tidak mengalami keratinisasi) yang membentuk pigmen melanin dan memberikannya kepada sel-sel keratinosit melalui dendritnya (satu sel melanosit menyuplai sekitar 36 sel keratinosit) (Tranggono dan Latifah, 2007 ; Bianchi et al., 2011).

## 2.2 Rute Penetrasi Zat Aktif Pada Kulit

Jalur utama penetrasi obat yaitu dengan cara menembus stratum korneum yaitu melalui jalur transepidermal. Jalur transepidermal dibagi menjadi dua jalur yaitu jalur transselular dan jalur interselular. Pada jalur transelular, obat melewati kulit dengan cara menembus lapisan lipid stratum korneum secara langsung dan sitoplasma dari keratinosit yang mati (Trommer dan Neubert, 2006).

### 2.3 *Acne Vulgaris*

*Acne Vulgaris* (jerawat) adalah penyakit peradangan duktus pilosebaceous

yang dihasilkan dari empat proses patofisiologi primer:

1. Proliferasi keratinocyte abnormal dan deskuamasi yang mengarah ke obstruksi duktus
2. Androgen mendorong peningkatan produksi sebum
3. Proliferasi *Propionibacterium acnes*
4. Peradangan

Peningkatan produksi androgen menyebabkan desquamation epitel yang

abnormal dan obstruksi folikuler, yang menyebabkan lesi prekursor primer pada jerawat — microcomedone. Microcomedones adalah struktur patologis yang tidak terlihat oleh mata telanjang yang berevolusi menjadi lesi yang terlihat. Peningkatan androgen yang bersirkulasi juga meningkatkan produksi sebum, menyebabkan folikel yang terhalang ini untuk diisi dengan bahan yang kaya lipid dan membentuk komedo terbuka dan tertutup yang terlihat. Sebum berfungsi sebagai substrat untuk pertumbuhan bakteri, yang menyebabkan proliferasi *Propionibacterium acnes*. Akhirnya, *Propionibacterium acnes* melepaskan mediator kimia yang mempromosikan peradangan, yang dipicu oleh pecahnya komedo traumatik ke dermis sekitarnya. Peradangan ini bermanifestasi melalui perkembangan papula inflamasi, pustula, nodul, dan kista.

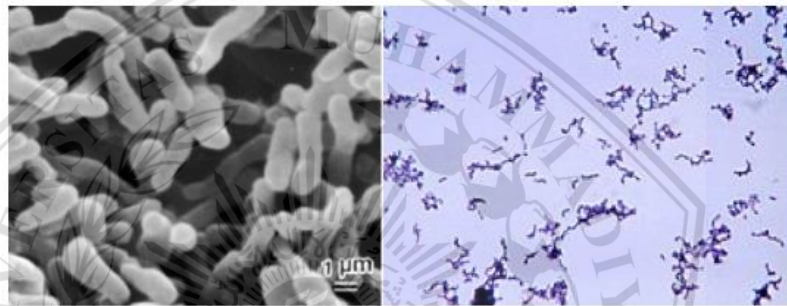
Penanganan jerawat yang berhasil membutuhkan pemahaman tentang empat aspek dari patofisiologi jerawat. Para ahli klinis harus memilih rejimen pengobatan yang diarahkan secara mekanis yang menargetkan setiap jenis lesi yang dominan pada pasien.

## 2.4 Tinjauan Bakteri *Propionibacterium Acnes*

### 2.4.1 Klasifikasi *Propionibacterium Acnes*

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Actinobacteria
Kelas	: Actinobacteridae
Ordo	: Actinomycetales
Family	: Propionibacteriaceae
Genus	: <i>Propionibacterium</i>
Spesies	: <i>Propionibacterium acnes</i> (Bruggeman, 2010)

### 2.4.2 Morfologi *propionobacterium acnes*



**Gambar 2.2** **Gambar a** - *Propionibacterium acnes* berbentuk batang dengan panjang 1µm yang dilihat dengan mikroskop elektron **Gambar b** - *Propionibacterium acnes* yang diwarnai kristal violet dengan perbesaran objek 100x (Abate, 2013: 1)

*Propionibacterium acnes* tidak memiliki spora, flagel dan kapsul (Oprica, 2006). *Propionibacterium acnes* adalah mikroaerophilic, anaerobic, bakteri Gram-positif, dan salah satu produk akhir dari fermentasi bakteri adalah asam propionat. Organisme adalah anggota flora normal rongga mulut, usus besar, konjungtiva, dan kulit pada manusia. *Propionibacterium acnes* memiliki dinding sel tebal yang kaya akan peptidoglikan dan lipopolisakarida (Oprica, 2006). *Propionibacterium acnes* memiliki lebar 0,5 - 0,8 mikrometer dan panjang 3-4 mikrometer, bakteri ini berbentuk batang dengan ujung meruncing atau kokoid (bulat) (Brooks, 2008). Suhu optimum untuk pertumbuhan koloni *Propionibacterium acnes* adalah 37 °C dengan kondisi anaerob.

### 2.4.3 Habitat *Propionibacterium Acnes*

*Propionibacterium acnes* merupakan bakteri flora normal yang ada pada kulit dan pada umumnya terdapat pada folikel sebacea. Saat bayi lahir, pada kulit bayi sudah ditemukan koloni bakteri *Propionibacterium acnes* namun hanya dalam jumlah sedikit, dan akan bertambah jumlahnya saat memasuki usia remaja diikuti dengan peningkatan produksi sebum pada folikel sebacea. *Propionibacterium acnes* lebih banyak ditemukan pada bagian wajah dan kulit kepala bila dibandingkan dengan lengan dan kaki pada kulit manusia. Kulit merupakan habitat utama dari *Propionibacterium acnes*, namun dapat juga diisolasi dari rongga mulut, saluran pernafasan bagian atas, saluran telinga eksternal, konjungtiva, usus besar, uretra dan vagina (Oprica, 2006).

### 2.4.4 Patogenitas *Propionibacterium Acnes*

*Propionibacterium acnes* mampu melakukan invasi ke dalam jaringan dan menghasilkan beberapa produk enzim sehingga dapat menimbulkan manifestasi klinis dari suatu penyakit. Enzim tersebut yaitu lipase, *Phospholipase C*, proteinase, *hyaluronidase*, neuroaminidase, *acid phosphatase*, *bacteriocins*, histamine dan triptami.

Peradangan jerawat kronis tidak dapat didefinisikan menjadi penyakit infeksi, karena bakteri biasanya terdapat pada kulit sebagian besar individu, terlepas dari keberadaan lesi jerawat. *Propionibacterium acnes* ternyata hanya memicu penyakit ketika memenuhi daerah dermatofisiologis yang menguntungkan. Keempat faktor utama patofisiologi yang dapat menyebabkan jerawat antara lain androgen merangsang seborrhea, hiperkeratinization dan obstruksi epitelium folikel, proliferasi *Propionibacterium acnes*, dan kemudian peradangan.

Comedogenesis, transformasi folikel pilosebaceous menjadi lesi jerawat primer, komedo, adalah produk keratinisasi folikel abnormal terkait dengan sekresi sebum yang berlebihan. Selama proses ini, *Propionibacterium acnes* sering terperangkap dalam lapisan corneocytes dan sebum yang dengan cepat mengkolonisasi comedonal kernel, menghasilkan microcomedone,

struktur yang tidak terlihat oleh mata telanjang. Sebuah microcomedone dapat berkembang menjadi struktur yang lebih besar, yang disebut komedo.

Komedo dapat berupa struktur tertutup (whitehead) yang tampak seperti benjolan berwarna pada kulit atau struktur terbuka (blackhead). Tidak seperti komedo terbuka, komedo tertutup tidak dapat menyingkirkan gabungan serabut dari sisa-sisa sel, sebum, *Propionibacterium acnes* dan produk lain ke permukaan kulit, dan ini membuat mereka lebih rentan terhadap peradangan.

Inflamasi pada jerawat, komedo dan material folikel lebih mudah terdispersi ke dalam dermis dari pada di permukaan kulit. Tergantung pada tingkat kerusakan pada dinding komedo, berbagai jenis lesi inflamasi diproduksi dan ini diklasifikasikan sebagai papula, pustula, atau nodul. Nodul adalah jenis lesi jerawat yang paling parah dan jaringan parut dapat dikaitkan dengan segala bentuk jerawat peradangan yang parah.

#### **2.4.5 Infeksi Terkait *Propionibacterium Acnes***

Koloni bakteri Gram positif anaerobik yaitu *Propionibacterium acnes* yang menyebabkan kondisi peradangan jerawat pada kulit telah dikenal selama lebih dari satu abad, peran terbesarnya dalam menginfeksi manusia dan kondisi klinis lainnya tidak diragukan lagi. *Propionibacterium acnes* dalam sampel biologis hanya mencerminkan kontaminasi dari mikroflora kulit atau secara klinis tidak relevan karena tingkat infeksi yang rendah. Atas dasar itu, ada kemungkinan bahwa sejumlah infeksi *Propionibacterium acnes* yang tidak diketahui, tidak terdiagnosis dan tidak dikenali (McDowell et al., 2013). Sedangkan penyakit yang melibatkan infeksi *Propionibacterium acnes* dan terkait alat-alat medis (kateter, *prosthetic joints*, *implants*, dan lain-lain) yaitu konjungtivitis akibat lensa kontak, (*shunt nephritis*, *shunt-associated central nervous system infection* dan *anaerobic arthritis* (Bruggeman, 2010).

*Propionibacterium acnes* bisa saja terlibat dalam penyebab penyakit seperti *osteomyelitis*, peritonitis, infeksi gigi, *rheumatoid arthritis*, abses otak, *empyema subdural*, keratitis, ulkus kornea, endoftalmitis, sarkoidosis, dan radang prostat (Oprica, 2006).

## 2.5 Identifikasi Bakteri *Propionibacterium Acnes*

**Tabel II.1** Identifikasi *Propionibacterium acnes* (Breed et al., 2005; Bojar, 2004)

Identifikasi	<i>Propionibacterium acnes</i>
Morfologi koloni	Sirkuler
Pewarnaan gram	Gram positif
Morfologi sel	Polimorf, berbentuk batang
Uji motilitas	Non motile
Uji reduksi nitrat	+
Uji Indole	+
Hidrolisis kasein	+
Katalase	+
B heolisis	+/-

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa *Propionibacterium acnes* dapat diidentifikasi dengan cara melihat morfologi koloni, pewarnaan gram, morfologi sel, uji motilitas, uji reduksi nitrat, uji indole, hidrolisis kasein, kasein dan B heolisis.

### 1. Morfologi Koloni

Bakteri dapat ditumbuhkan dalam suatu media agar yang akan membentuk suatu penampakan berupa koloni. Koloni sel bakteri adalah sekelompok masa sel yang dapat dilihat dengan mata telanjang tanpa alat bantu. Semua sel dalam koloni tersebut sama dan keturunan (*progeny*) dari satu mikroorganisme dan mewakili suatu biakan murni. Penampakan koloni pada media agar menunjukkan bentuk dan koloni yang khas, dilihat dari bentuk keseluruhan penampakan koloni, tepi dan permukaan koloni. Pada *Propionibacterium acnes* koloni bakteri berbentuk sirkuler (Breed, Murray dan Smith, 2005).

### 2. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram merupakan pewarnaan diferensial yang sangat berguna dan paling banyak digunakan dalam laboratorium mikrobiologi (Rahayu & Gumilar, 2017). Pewarnaan gram adalah suatu metode empiris

untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang dibedakan berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel bakteri. Pewarnaan gram memiliki prinsip berdasarkan kemampuan dinding selnya terhadap zat warna dasar yaitu kristal violet setelah pencucian alkohol 96%. Bakteri gram positif akan terlihat berwarna ungu karena dinding sel yang mengikat kristal violet lebih kuat, sedangkan bakteri gram negatif mengandung lebih banyak lipid sehingga pori-pori mudah membesar dan kristal violet merupakan bahan yang mudah larut saat pencucian alkohol 96% (Karmana, 2008).

### 3. Morfologi sel

Morfologi sel bakteri dapat dilihat dibawah mikroskop cahaya, bakteri memiliki banyak bentuk seperti, kokus, basil dan spiral. *Propionibacterium acnes* memiliki morfologi sel yang terlihat polimorf dan berbentuk batang (Breed, Murray dan Smith, 2005).

### 4. Uji Motilitas

Uji motilitas dilakukan untuk melihat pergerakan dari suatu bakteri. Kebanyakan sel bakteri dapat bergerak dengan menggunakan flagel, akan tetapi terdapat sel bakteri yang tidak dapat bergerak karena tidak memiliki flagel, karena flagel merupakan alat gerak bagi bakteri. Bakteri dengan uji motilitas positif berarti mampu bergerak dan memiliki flagel, begitu pula sebaliknya bakteri dengan uji motilitas negatif tidak mampu bergerak dan tidak memiliki flagel (Hastiti, 2005).

### 5. Uji katalase

Uji katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada suatu bakteri uji. Bakteri katalase yang positif mampu membentuk gelembung-gelembung oksigen hal ini disebabkan oleh adanya pemecahan  $H_2O_2$  oleh enzim katalase yang dihasilkan oleh bakteri itu sendiri. Komponen  $H_2O_2$  merupakan salah satu zat beracun yang berasal dari hasil respirasi bakteri aerobik, dimana hasil respirasi tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Pada bakteri katalase negatif, bakteri tidak menghasilkan gelembung-gelembung karena bakteri gram negatif tidak memiliki enzim



katalase untuk menguraikan  $H_2O_2$  (Hastiti, 2005). *Propionibacterium acnes* memiliki hasil uji katalase positif (Bojar, 2004).

#### 6. Uji Indol

Uji indol digunakan untuk mengetahui apakah kuman mempunyai enzim triptophanase, sehingga kuman tersebut mampu mengoksidasi asam amino triptophan dan membentuk indol (Cowan, 2004). *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri dengan indol positif (Breed, 2001). Adanya indol dapat diketahui dengan penambahan reagen Ehrlich Kovac's yang berisi paradimetil amino bensaldehid. Apabila interpretasi negatif tidak terbentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan, artinya bakteri ini tidak membentuk indol dari triptophan sebagai sumber karbon. Begitu pula sebaliknya, interpretasi positif bila terbentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan, artinya bakteri ini membentuk indol dari triptophan sebagai sumber karbon (Cowan, 2004).

#### 7. Uji Reduksi Nitrat

Reduksi nitrat terjadi pada kebanyakan bakteri anaerob. Uji reduksi nitrat bertujuan untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri dalam mereduksi nitrat menjadi nitrit. Pembentukan nitrit ditandai dengan terbentuknya warna merah setelah ditambahkan asam sulfalinat dan  $\alpha$ -naphthalamyne (karmana, 2008).

#### 8. Uji Reduksi Kasein

Uji reduksi kasein bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi susu menjadi asam yang dapat menyebabkan kasein mengendap atau menggumpal. Uji kasein positif bila terbentuk endapan berwarna hijau dan terjadi perubahan warna yang pada awalnya berwarna keabu-abuan menjadi berwarna kuning. Warna kuning yang terjadi disebabkan oleh adanya respon indikator terhadap perubahan pH yang menjadi asam (Karmana, 2008).

#### 9. $\beta$ –hemolisis

*Blood agar plate* (BAP) adalah media differensial untuk membedakan bakteri hemolitik dan non hemolitik yaitu berdasarkan kemampuan bakteri untuk melisis eritrosit (Sihotang, 2015). Uji hemolisis digunakan untuk

mengetahui kemampuan bakteri untuk melisiskan eritrosit.  $\beta$  -hemolisis didefinisikan lisis lengkap dengan tampilan warna transparan dikelilingi bakteri pada medium (Karmana,2008).

## **2.6 Emulgel**

Emulgel merupakan sediaan bertipe emulsi minyak dalam air (o/w) atau air

Dalam minyak (w/o) yang diaplikasikan kedalam bentuk sediaan gel. Sifat dermatologis dari emulgel adalah waktu kontak lama, tiksotropik, melembabkan, konsistensi baik, mudah menyebar, mudah terpenetrasi, larut air, transparan, mudah dihilangkan, dan mudah bercampur dengan bahan eksipien (Haneefa et. al., 2013). Obat yang bersifat hidrofilik sangat sulit apabila dibuat dalam bentuk sediaan gel, sehingga karena kekurangan ini maka obat dengan sifat hidrofilik dibuat dalam bentuk sediaan emulgel (Panwar et.al., 2011). Stabilitas emulsi akan meningkat bila diinkorporasi dalam sediaan gel. Sediaan gel akan membuat sediaan emulsi stabil dengan adanya penurunan tegangan permukaan dan antarmuka secara bersamaan (Khullar et. al., 2012).

### **2.6.1 Keuntungan Emulgel**

Emulgel memiliki beberapa keuntungan antara lain :

1. Gel mudah digabungkan dengan obat bersifat hidrofilik dengan menggunakan emulsi bertipe o/w. Masalah yang dimiliki obat dengan sifat hidrofilik adalah kelarutannya yang susah dan tidak dapat langsung bergabung dengan basis gel, oleh karena itu emulgel dapat membantu menggabungkan antara obat hidrofilik dengan basis gel.
2. Stabilitas lebih baik.
3. Penetrasi lebih baik.
4. Biaya persiapan dan uji kelayakan produksi sediaan lebih ekonomis.
5. Proses sonikasi tidak perlu intensif.
6. Emulgel dibuat menjadi pelepasan terkendali dan cocok untuk obat dengan  $t_{1/2}$  pendek.

7. Digunakan untuk obat hidrofobik maupun obat hidrofilik (Hyma,2014)

### 2.6.2 Kekurangan Emulgel

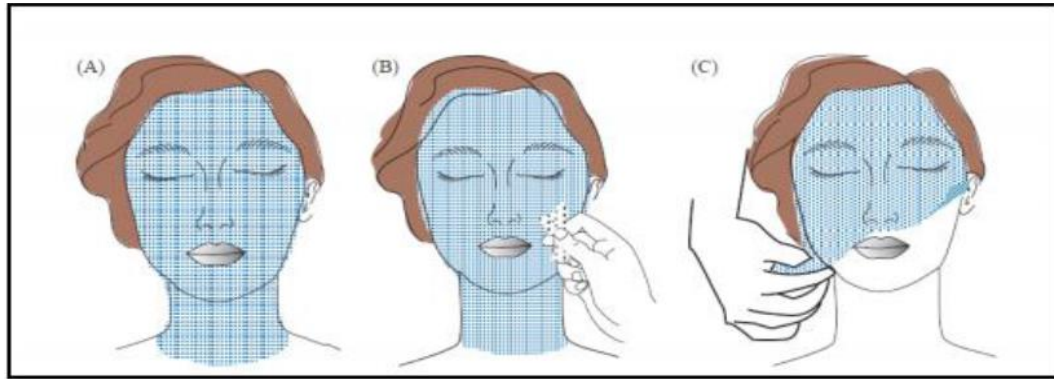
Emulgel memiliki beberapa kekurangan antara lain :

1. Dapat terjadi pembentukkan gelembung saat tahap produksi.
2. Obat dengan ukuran partikel besar sulit terpenetrasi kedalam kulit bila menggunakan sediaan emulgel.
3. Obat dengan permeabilitas rendah pada kulit tidak disarankan dibuat dalam sediaan emulgel (Supriya, 2014).

### 2.7 *Peel-off Mask*

Masker wajah adalah sediaan kosmetik untuk perawatan kulit wajah. Masker wajah memiliki manfaat sebagai pemberi kelembaban, mengembalikan tekstur kulit, memberi nutrisi pada kulit, melembutkan kulit, membersihkan pori-pori kulit, mencerahkan warna kulit, mengendurkan otot-otot wajah dan menyembuhkan jerawat (Irawati dan Sulandjari, 2013; Utami, 2014). Salah satu jenis masker wajah adalah masker *peel off* (Shai et al., 2009). Masker *peel off* merupakan masker yang terbuat dari bahan polimer yaitu polivinil alkohol dan (Shai et al., 2009). Keunggulan masker *peel-off* yaitu dapat memberikan sensasi dingin hal ini dikarenakan lambatnya proses penguapan air pada kulit namun tidak menghambat fungsi *respiration* sensibilis karena tidak melapisi permukaan kulit secara kedap serta tidak menyumbat pori-pori kulit, pemakaian dilakukan pada bagian tubuh yang berambut, daya sebar dan daya lekat baik, serta mampu melepaskan zat aktif dengan baik (Lieberman dan Banker, 1989; Voigt, 1994).

Masker diaplikasikan pada permukaan kulit dengan cara dioleskan, ditunggu mengering, mengeras dan membentuk lapisan tipis, fleksibel serta transparan biasanya 15-30 menit kemudian dikelupas seperti pada gambar.



**Gambar 2.3** 4 Cara menggunakan masker *peel off* (Shai et al., 2009).

Keterangan: (A) Sepotong kain kasa yang dibasahi dengan akuades ditempatkan pada wajah; (B) Masker *peel off* dioleskan di atas kasa; (C) Setelah waktu pengaplikasian selesai masker diangkat dengan cara dikelupasan.

## **2.8 Tinjauan *Tea Tree Oil***

### **2.8.1 Sejarah Tanaman *Tea Tree Oil***

*Tea tree oil* adalah minyak esensial yang didapatkan dari hasil suling tanaman *Australia Melaleuca alternifolia*. *Tea tree oil* telah digunakan secara medis oleh suku *Aborigin Australia* selama berabad-abad dan telah diidentifikasi sebagai antiseptik oleh ahli kimia *New South Wales* pada tahun 1920.

Minyak dari tanaman ini didapatkan dengan cara penyulingan dengan uap. *Tea tree oil* diproduksi dan dipasarkan di Australia selama 80 tahun terakhir. Hanya dalam 20 tahun terakhir, *Melaleuca alternifolia* telah dibudidayakan secara intensif sebagai tanaman pertanian komersial (*Australian Government*, 2007).

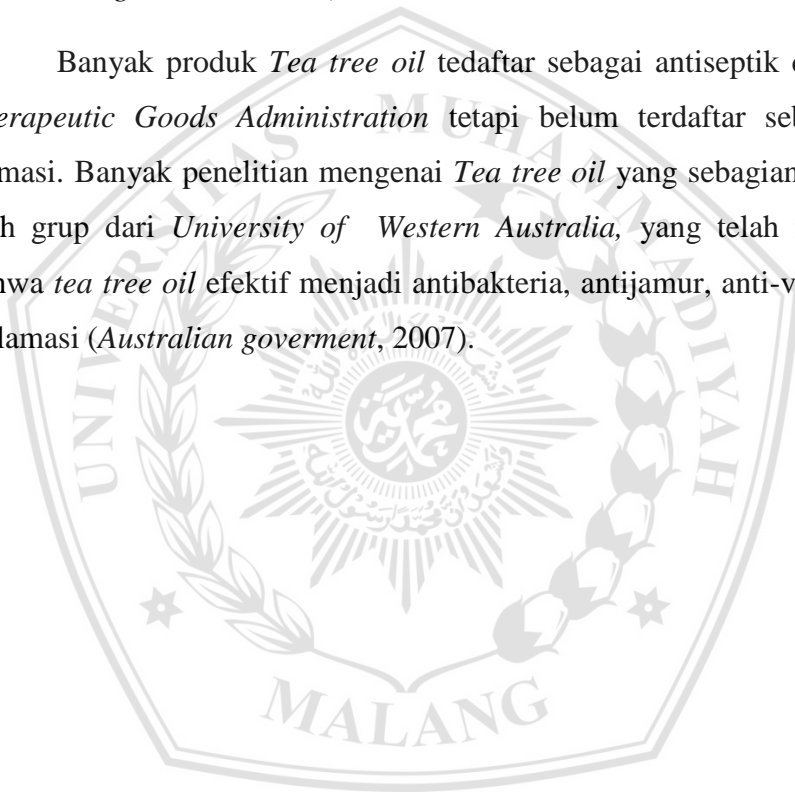
Dalam beberapa dekade sejak saat itu, *Tea tree oil* juga telah ditemukan memiliki khasiat sebagai anti-jamur, antibakteri, aktivitas anti-virus dan anti-inflamasi (*Australian Government*, 2007).

Bertahun-tahun digunakan dalam berbagai macam produk, *Tea tree oil* telah jelas menunjukkan bahwa *Tea Tree Oil* aman untuk kesehatan manusia. selanjutnya, data pelaporan dari perusahaan menunjukkan bahwa efek buruk

dari penggunaan sediaan yang mengandung *Tea Tree Oil* sangat rendah, kurang dari 0,0016%, dengan hanya laporan berupa keluhan kecil (*Australian goverment*, 2007).

Produk kosmetik yang ditambahkan *Tea tree oil* memiliki konsentrasi yang berbeda di setiap formulasinya, pelembab (1.25%), *body lotions* (1.25%), sampo dan condisioner, *mouth washes* (0.2%), pembersih wajah (0.7%), pencuci tangan (0.7%), sabun (2%), semprotan kaki (2%), bubuk kaki (1%), produk pencukur (2%), perawatan pasca *waxing* (1.25%) and *deodorants* (2%) (*Australian goverment*, 2007).

Banyak produk *Tea tree oil* terdaftar sebagai antiseptik di *Australia's Therapeutic Goods Administration* tetapi belum terdaftar sebagai produk farmasi. Banyak penelitian mengenai *Tea tree oil* yang sebagian besar diteliti oleh grup dari *University of Western Australia*, yang telah membuktikan bahwa *tea tree oil* efektif menjadi antibakteria, antijamur, anti-viral, dan anti-inflamasi (*Australian goverment*, 2007).



### 2.8.2 Klasifikasi Tanaman *Tea Tree Oil*

#### a. Taksonomi

*Tea tree oil* diproduksi dari tanaman *Melaleuca alternifolia* dalam perkebunan skala besar di New South Wales dan Queensland, Australia. Diberi nama "*Tea Tree*" karena tanaman ini awalnya digunakan untuk membuat teh aromatik (*European Medicines Agency*, 2013).

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Myrtales

Suku : Myrtaceae

Marga : *Melaleuca*

Jenis : *Melaleuca alternifolia*

1. Nama umum/dagang

Kayu putih

2. Nama daerah

Kayu putih (Jawa)

(Depkes RI, 2000)

#### b. Morfologi Tanaman

1. Habitus

Pohon, tinggi mencapai 8 m.

2. Batang

Tegak, keras, bulat, permukaan halus, putih abu-abu.

3. Daun

Tunggal, berseling, rapat; panjang tangkai 1 – 2 mm, hijau; helaian bentuk lanset, ujung runcing sampai tumpul, tepi rata, pangkal runcing sampai tumpul, panjang 2 – 3 cm, lebar 0,1 – 0,2 cm, pertulangan membujur, daging daun tipis, permukaan halus, hijau, bawah keputih – putihan.

4. Bunga

Majemuk, bentuk bulir, rapat, di antara dua sumbu daun; bunga tangkai bertangkai; daun kelopak 5, berlekatan, bulat, permukaan kasar, hijau; Daun mahkota 5, bertoreh, berlepasan, bentuk bulat telur,

permukaan halus, putih; Benang sari banyak, bulat, panjang 0,5 cm, putih sampai putih kekuningan, kepala sari bulat, kuning; putik1, kepala putik bulat, kecil, kuning.

5. Buah

Kotak, bulat seperti konceng, keras, coklat.

6. Biji

Bulat, kecil, coklat kehitaman.

7. Akar

Tunggang, coklat.

(Depkes RI, 2000)



**Gambar 2.4** *Melaleuca alternifolia*

### 2.8.3 Kandungan Senyawa Kimia Pada *Tea Tree Oil*

*Tea Tree Oil* tersusun atas hidrokarbon terpena, terutama monoterpena, seskuiterpen, dan alkohol. Terpen adalah hidrokarbon aromatik yang mudah menguap dan dapat dianggap sebagai polimer isoprena, yang memiliki rumus  $C_5H_8$  (Carson et al., 2006). *Tea Tree Oil* memiliki kepadatan relatif dari 0,885-0,906, sedikit larut dalam air, dan larut dalam pelarut nonpolar (ISO, 2004). *Tea Tree Oil* berwarna kuning atau kuning pucat, dan mempunyai bau mint seperti champer (Groot et al., 2016).

*Tea tree oil* mengandung  $\pm 100$  komponen, *tea tree oil* mengandung terpinen dan cineole (Kumari, 2013). *Tea tree oil* memiliki kandungan utama terpinen-4-ol (37,7%),  $\gamma$ -terpinen (21,25%),  $\alpha$ -terpinen (10,5%), dan terpinolen (3,65%) (Ninomiya, 2013). *Tea tree oil* mempunyai sifat anti inflamasi dengan menekan produksi superoksida dan sitokin proinflamasi, yang di buktikan dengan pengurangan peradangan (Tighe et al., 2013).

*Tea tree oil* mempunyai enam *chemotypes*, yang merupakan minyak dengan komposisi kimia yang berbeda, yang terdiri dari *chemotypeterpinen-4-ol*, *achemotype terpinolen*, dan empat *1,8-cineol* (Homer et al., 2000). Chemotype terpinen-4-ol biasanya mengandung tingkat terpinen-4-ol antara 30 hingga 40% (Homer et al., 2000). Dalam produksi komersial *tea tree oil* yang di gunakan adalah kandungan *chemotype terpinen-4-ol* (Carson et al., 2006).

Standart kandungan *tea tree oil* ditetapkan tahun 1985 di *Australia*, kemudian pada tahun 1996 ditetapkan sebagai standart internasional. Standart tersebut menyebutkan bahwa kandungan terpinen-4-ol *tea tree oil* 30% atau lebih dan maksimal 15% cineol (Khan dan Abourashed, 2010).

Meskipun variabilitas inheren komersial *tea tree oil* tidak ada perbedaan yang jelas dalam bioaktivitasnya. Informasi bahwa minyak dari klon khusus *Melaleuca alternifolia* dapat meyebabkan iritasi pada membran dan mukosa lendir (Carson et al., 2006).

Data terbaru, tidak menunjukkan bahwa 1,8-cineole menyebabkan iritasi. Meskipun kandungan dari 1,8-cineole telah dikurangi atas dasar mengurangi reaksi yang merugikan tidak dibenarkan, tetapi hal ini menjadi pertimbangan penting karena tingkat 1,8-cineole biasanya berbanding terbalik dengan tingkat terpinen-4-ol (Brophy et al., 1989). Dan merupakan salah satu komponen antimikroba utama *tea tree oil* (Carson et al., 2006). Komponen dari *tea tree oil* dapat berubah selama

penyimpanan (Brophy et al., 1989). *Tea tree oil* harus disimpan dalam kondisi gelap, dingin, kering, sebaiknya di wadah yang mengandung sedikit udara (May et al., 2000).



**Tabel II.2** Komponen dan Komposisi Tanaman *Melaleuca alternifolia* (Carson et. al., 2006)

Nama Senyawa Kimia	Persentase
$\alpha$ -pinene	1-6
Sabinene	0-3,5
$\alpha$ -terpinene	5-13
Limonene	0,5-1,5
$\rho$ -cymene	0,5-8
1,8, cineole	0-15
$\gamma$ -terpinene	10-28
Terpineolene	1,5-5
Terpinen-4-ol	30-48
$\alpha$ -terpineol	1,5-8
Aromadendrene	0-3
Ledene	0-3
$\delta$ -cadinene	0-3
Globulol	0-1
Viridiflorol	0-1

#### 2.8.4 Khasiat *Tea Tree Oil*

*Tea Tree Oil* adalah salah satu minyak esensial yang paling banyak dipelajari di Australia, banyak penelitian telah dilakukan untuk mengetahui keefektifan, stabilitas, oksidasi dan toksisitasnya. *Tea tree oil* adalah minyak esensial yang didapatkan dari hasil suling tanaman *Australia Melaleuca alternifolia*. *Tea tree oil* telah digunakan secara medis oleh suku *Aborigin Australia* selama berabad-abad dan telah diidentifikasi sebagai antiseptik oleh ahli kimia *New South Wales* pada tahun 1920.

*Tea tree oil* sudah diketahui memiliki manfaat untuk kesehatan, yaitu antibakteri, antiseptik, analgesik, antiinflamasi, insektisidal, anti kanker dengan hasil yang sangat menarik dan memiliki potensi untuk dikembangkan kembali (Campi et al, 2012 dan Li et al., 2013). Penelitian terbaru menunjukkan efektivitas *tea tree oil* untuk melawan parasit protozoa seperti *Leishmania major*, tapi tidak untuk parasit nematoda (Rincón et al., 2014).

*Tea tree oil* yang terkontaminasi udara dan cahaya mengakibatkan oksidasi beberapa komponennya. Komponen-komponen yang teroksidasi ini meningkatkan toksisitas *tea tree oil*. Meskipun *tea tree oil* adalah 100% sensitiser kulit yang lemah dan umumnya terjadi pada individu yang rentan, *tea tree oil* yang teroksidasi memiliki kecenderungan yang lebih besar untuk menyebabkan sensitisasi kulit.

Ada beberapa jurnal yang menyatakan bahwa *tea tree oil* dapat mengaktifkan monosit, 20% *tea tree oil* dapat menembus epidermis manusia. Terpinen-4-ol adalah senyawa yang sebagian besar dapat menembus ke dalam kulit manusia yang juga berkhasiat sebagai antibakteri (Ramadass and Padma, 2015).

Kemampuan aktivitas antibakteri dari *tea tree oil* dibandingkan dengan asam karbolat atau fenol, menunjukkan hasil 11 kali lipat lebih aktif dengan uji koefisien Rideal-Walker (RW). Dengan demikian *tea tree oil* disarankan menjadi pilihan terapi (Salvatori et al., 2017). Studi *in vitro* menunjukkan keefektifan *tea tree oil* untuk menghambat beberapa bakteri kulit yang umum. Komponen senyawa kimia dalam *tea tree oil* (terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -pinen, dan cineol) memiliki efek untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Propionibacterium acnes* (Raman et al., 1995).

### **2.8.5 Stabilitas Tea Tree Oil**

Komposisi dari *tea tree oil* berubah dari waktu ke waktu, terutama ketika terkena udara tetapi juga ketika *tea tree oil* terpapar cahaya dan suhu tinggi. Pada tahun 2006, sebuah studi komprehensif dilakukan untuk melihat bagaimana komposisi *tea tree oil* berubah selama 12 bulan. Desain penelitian dilakukan dengan cara mereplikasi kondisi di mana *tea tree oil* di masukkan ke dalam botol dan secara teratur dibuka, hal ini menyebabkan *tea tree oil* menguap ke udara, selain itu karena terpapar cahaya dalam waktu yang singkat, menyebabkan *tea tree oil* sedikit menghilang (Australian goverment, 2007).

Ketika menilai kualitas *tea tree oil* dan tingkat degradasi oleh paparan udara, nilai peroksida dan tingkat p-cymene adalah indikator yang baik untuk mengetahui seberapa besar *Tea tree oil* terdegradasi. Bila nilai peroksida dan tingkat p-cymene meningkat maka itu merupakan tanda bahwa *tea tree oil* terdegradasi. Selama enam bulan pertama penelitian komposisi minyak relatif tidak berubah. Setelah enam bulan ada sedikit peningkatan tingkat p-cymene. Namun, tingkat p-cymene masih kurang dari 6,7% setelah 12 bulan, dimana kadar p-cymene berada di bawah batas atas yaitu 8% yang ditentukan dalam Standar Internasional. Demikian pula, nilai peroksida tetap di bawah 10 juta O<sub>2</sub> sepanjang penelitian. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada oksidasi atau degradasi minyak yang cukup untuk setidaknya 12 bulan di bawah kondisi umum yang digunakan. Untuk mengurangi oksidasi, Praktek industri merekomendasikan produk *tea tree oil* agar tetap tertutup rapat dan disimpan jauh dari cahaya dan panas (*Australian goverment*, 2007).

#### **2.8.6 Stabilitas *Tea tree oil* Dalam Formula**

Stabilitas *tea tree oil* dalam produk yang diformulasikan tergantung pada beberapa faktor. Desain formulasi dan praktik manufaktur yang baik memainkan peran penting. Lebih penting lagi, produk yang diformulasikan harus disimpan dengan tepat oleh konsumen. Mereka harus dijauhkan dari sinar matahari langsung dan panas yang berlebihan dan paparan udara harus diminimalkan (*Australian goverment*, 2007).

Data stabilitas penyimpanan pada beberapa produk yang diformulasikan telah dikumpulkan dan stabilitas produk dipantau menggunakan konten p-cymene dari *tea tree oil*. Umumnya, konten p-cymene meningkat selaras dengan lama waktu penyimpanan, tetapi tetap di bawah batas atas yang ditentukan dalam Standar ISO. Tingkat degradasi minyak bervariasi sesuai dengan medium yang mengandung minyak. Di Eropa, umur simpan 12 bulan setelah pembukaan direkomendasikan untuk produk minyak pohon teh yang diformulasikan (*Australian goverment*, 2007).

### 2.8.7 Mekanisme Antibakteri *Tea Tree Oil*

Dari awal 1990-an dan seterusnya, banyak laporan yang menjelaskan aktivitas antimikroba *tea tree oil* muncul dalam literatur ilmiah. Meskipun masih ada perbedaan antara metode yang digunakan dalam studi yang berbeda, MIC dilaporkan sering menunjukkan hasil yang relatif sama. Berbagai macam bakteri kini telah diuji untuk kerentanan mereka terhadap *tea tree oil* (Marshall et al., 2001).

Salah satu bakteri yang di uji pada salah satu penelitian ialah *propionibacterium acnes*, yang merupakan bakteri penyebab munculnya jerawat pada wajah. Asumsi tentang mekanisme kerjanya dibuat berdasarkan struktur hidrokarbon dan lipofilisitas. Karena partisi hidrokarbon secara istimewa masuk ke dalam membran biologis dan mengganggu fungsi vital dari *propionibacterium acnes*. *Tea tree oil* dan komponen penyusunnya juga dianggap menunjukkan reaksi pada perlakuan yang sama. Alasan ini didukung oleh data yang menunjukkan bahwa *tea tree oil* dapat menembus sistem model liposomal (Warmington & Wyllie, 2000). Dalam penelitian sebelumnya hidrokarbon tidak ditemukan di *tea tree oil*, dan terpena ditemukan dengan konsentrasi rendah di *tea tree oil* (Carson et al., 2006).

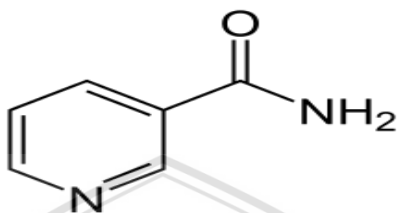
Dengan adanya spektrum luas dari *tea tree oil* dan efek merusak membran akan menyebabkan peningkatan difusi melalui dinding sel dan masuk ke daerah fosfolipid struktur membrane sel. Mekanisme terpinen-4-ol untuk membunuh bakteri yaitu dengan merusak dinding sel bakteri, ditunjukkan dengan hilangnya materi inti sel dan K<sup>+</sup>, mengganggu keseimbangan garam dalam sel, dan adanya penghambatan respirasi glukosa dalam pengamatan mikroskop electron setelah dilakukan pemberian *tea tree oil* secara in vitro pada bakteri *S. aureus* (Cox et. al., 2000).

Terpine-4-ol komponen antimikroba pada Tea Tree Oil yang dapat menyebabkan kebocoran sel, dan membuat sel-sel rentan terhadap NaCl. *Tea tree oil* menunjukkan efek antimikroba melalui lisis sel dan kehilangan integritas membrane yang menyebabkan kebocoran ion dan penghambatan respirasi (Fong et al., 2014).

*Tea tree oil* dapat mengendalikan strain bakteri dengan cara yang sangat efisien pada konsentrasi penggunaan yang sangat rendah, hal ini menunjukkan bahwa dirinya adalah agen antibakteri yang sangat baik (Falci et al., 2015).

## 2.9 Niasinamida

### 2.9.1 Struktur Niasinamida



Gambar 2.5 Struktur Niasinamida

### 2.9.2 Monografi Niasinamida

Sinonim	: Nikotinamida, Niasinamida, Niacinamide (Depkes, 2014)
Nama kimia	: Piridin-30-karboksamida (C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O) (Depkes, 2014)
Warna	: Bubuk kristal putih (Chase et al., 1970)
Bau	: Tidak Berbau (Osol, A. dan J.E. Hoover, et al., 1975)
Rasa	: Pahit (Lewis, R.J. Sr., 2001)
Titik Didih	: 157 deg C at 5X10 <sup>-4</sup> mm Hg (Lide, D.R., 2005)
Titik leleh	: 130 deg C (Lide, D.R., 2005)
Kelarutan	: 1 g larut dalam sekitar 1 ml air, dalam 10 ml gliserol, dalam sekitar 1,5 ml alkohol (O'Neil, M.J., 2001), larut dalam butanol dan kloroform (Furia, T.E., 1972), Sangat larut dalam etanol 95%. Larut dalam butanol, amil alkohol, etilena glikol, aseton dan kloroform; sedikit larut dalam eter atau benzena (Van Arnum SD & Kirk-Othmer, 2000).
Stabilitas	: Stabil terhadap panas, asam dan alkali (Furia, T.E., 1972).

pH : 6,0 – 7,5 (Depkes, 2014)

### **2.9.3 Sumber Niasinamida**

Niasinamida ditemukan secara luas dalam sebagian besar makanan yang berasal dari sumber hewani dan nabati. Asam amino essensial triptofan dapat diubah menjadi niasinamida dimana setiap 60 mg triptofan dapat menghasilkan 1 mg niasinamida (Rusdiana, 2004).

### **2.9.4 Manfaat Niasinamida Bagi Kulit**

Niasinamida (asam nikotinat, asam 3-piridin-karboksilat/NA) adalah vitamin yang sangat larut dalam air (P. Pfuhl et al, 2004). Niasinamida, juga dikenal sebagai nikotinamida dan nikotinik amida, merupakan suatu amida dari asam nikotinat (vitamin B3/niasin) (Kawada, 2008). Niasinamida derivat amida (NAM) adalah komponen dari NAD (nicotinamide adenine dinukleotida), sebuah koenzim yang penting bagi banyak sel reaksi oksidasi-reduksi (P. Pfuhl et al, 2004).

Niasinamida merupakan serbuk hablur; putih, tidak berbau atau praktis tidak berbau, rasa pahit. Larutan bersifat netral terhadap kertas lakmus. Niasinamida Mudah larut dalam air dan dalam etanol, larut dalam gliserin (DepKes RI, 2014).

Niasinamida diasumsikan menjadi vitamin larut air yang paling stabil. Stabilitas Niasinamida tetap konstan selama penyimpanan pada suhu 20, 30 dan 37°C selama 12 bulan (Albaba-Hurtado et al., 2000). Namun, untuk mencegah hidrolisis menjadi asam nikotinat yang dapat menyebabkan merah, maka dalam formulasi dapat dipilih pH 4-7 (Bissett, 2009). Vitamin ini sangat stabil terhadap panas, cahaya, oksigen dan kelarutannya dalam air juga mempermudah formulasi niasinamida sebagai bahan pelembab (Draelos, 2000).

Niasinamida mampu meningkatkan fungsi penghalang lapisan kulit sehingga meningkatkan resistensi kulit terhadap lingkungan dari senyawa yang dapat merusak seperti surfaktan, pelarut, dan dapat mengurangi iritasi, inflamasi, dan kekasaran dimana dapat menyebabkan penuaan pada kulit. Selain itu, vitamin ini dapat meningkatkan kandungan air pada lapisan tanduk, antigaris halus, antikerut, antioksidan, mengurangi hiperpigmentasi, dan

antijerawat (Bissett, 2009; Draelos & Traman, 2006; Lupo, 2001; Salvador & Chisvert, 2007). Baru-baru ini niasinamida disetujui menjadi obat anti-jerawat yang ampuh karena memiliki efek anti-inflamasi yang kuat. Mengurangi peradangan adalah mekanisme utama niasinamida sebagai anti-jerawat. Penelitian lebih baru telah mencatat bahwa niasinamida topikal sangat ditoleransi dengan baik oleh kulit wajah yang memberikan beberapa efek menguntungkan dalam mengurangi produksi sebum (Bissett et al., 2005; Draelos et al., 2006).

### **2.9.5 Mekanisme Kerja Niasinamida**

Niasinamida telah digunakan untuk perawatan *acne vulgaris* selama lebih dari 50 tahun, dan beberapa penelitian terbaru telah menyelidiki keampuhan dan keamanannya (Hao dan Chang-yi, 2016). Nicotinamide terlibat dalam berbagai reaksi reduksi oksidasi dalam sistem biologis mamalia, pada dasarnya niasinamida bertindak sebagai antioksidan (Fivenson, 2006).

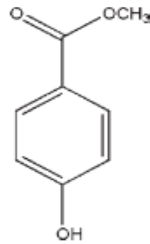
Mekanisme kerja niasinamida dalam pengobatan *acne vulgaris* adalah efek anti-inflamasinya, melalui penghambatan kemotaksis leukosit, pelepasan enzim lisosom, efek bakteriostatik terhadap penyebab jerawat yaitu *Propionibacterium acnes*, dan penurunan produksi sebum. Dalam studi klinis, niacinamide secara signifikan menurunkan hiperpigmentasi dan meningkatkan kecerahan kulit; mekanisme terjadi dengan menghambat transfer melanosom dari melanosit ke keratinosit (Otte, 2005). Mekanisme lain yang mungkin terjadi melibatkan penekanan permeabilitas pembuluh darah dan akumulasi sel inflamasi serta perlindungan terhadap kerusakan DNA (Surjana et al., 2010).

### **2.9.6 Penetrasi Niasinamida kedalam kulit**

Niasinamida merupakan senyawa hidrofilik sehingga sulit untuk menembus ke dalam kulit karena struktur lipid bilayer dari stratum korneum (Hakozaki et al., 2006; Nicoli et al., 2008).

## 2.10 Komponen penyusun masker peel-off

### 2.10.1 Polivinil alcohol (PVA)



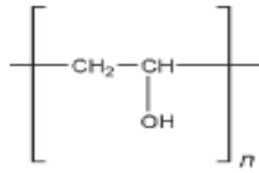
**Gambar 2.6** Struktur Kimia PVA (Rowe *et al.*, 2009)

Sinonim	: Airvol; Alcotex; Celvol; Elvanol; Gelvatol; Gohsenol; Lemol; Mowiol; poly (alcohol vinylicus); Polyvinol; PVA; vinyl alcohol polymer.
Rumus Molekul	: $(C_2H_4O)_n$
Berat Molekul	: 20.000-200.000
Titik Lebur	: 228°C Hidrolisis sepenuhnya 180 - 190°C Hidrolisis sebagian
Pemerian	: Bubuk granular berwarna putih sampai krem, tidak berbau.
Kelarutan	: Larut dalam air, sedikit larut dalam etanol (95%), tidak larut dalam pelarut organik
Penggunaan	: Gelling agent

PVA umumnya dianggap sebagai bahan yang tidak beracun. Bahan ini bersifat noniritan pada kulit dan mata pada konsentrasi sampai dengan 10%, serta digunakan dalam kosmetik pada konsentrasi hingga 7% (Rowe *et al.*, 2009).



### 2.10.2 Metil Paraben



**Gambar 2.7** Struktur Kimia Metil Paraben (Rowe et al., 2009)

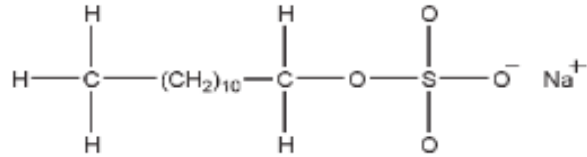
- Sinonim** : Aseptoform M; CoSept M; E218; 4-hydroxybenzoic acid methyl ester; metagin; Methyl Chemosept; methylis parahydroxybenzoas; methyl p-hydroxybenzoate; Methyl Parasept; Nipagin M; Solbrol M; Tegosept M; Uniphen P 23.
- Rumus Molekul** : C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>
- Berat Molekul** : 152,15
- Pemerian** : Kristal berwarna atau serbuk kristalin putih tidak berbau, sedikit rasa terbakar.
- Kelarutan** : Sukar larut dalam air dan benzen, mudah larut dalam etanol dan eter, larut dalam minyak, propilen glikol dan dalam gliserol.
- Penggunaan** : Pengawet
- Inkompaktibilitas** : Aktivitas antimikroba berkurang dengan adanya surfaktan nonionik, bentonit, magnesium trisiklik minyak. esensial, sorbitol, talk, tragacanth, atropin, natrium alginat. (Rowe et al., 2009).

### 2.10.3 Aquadest

- Sinonim** : Aqua, aqua purificata, hidrogen oksida
- Berat Molekul** : 18,02
- Struktur Kimia** : H<sub>2</sub>O
- Pemerian** : Air digunakan untuk minum, air pada industri farmasi yang digunakan adalah air murni, air steril, air steril untuk injeksi, air steril untuk irigasi, air steril untuk inhalasi, air merupakan cairan yang

encer, tidak berwarna, tidak berbau rasa cairan  
(Rowe et al., 2009).

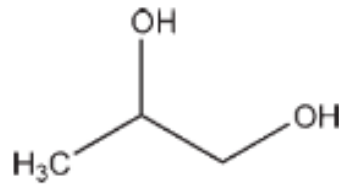
#### 2.10.4 Sodium Laurly Sulfat



**Gambar 2.8** Struktur Kimia SLS (Rowe et al., 2009).

- Sinonim : Natrium lauryl sulfat, SLS
- Rumus Molekul : C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>NaO<sub>4</sub>S
- Berat Molekul : 288,38
- Pemerian : Serbuk putih atau krem sampai kristal kuning pucat, halus, rasa pahit, bau samar.
- Kelarutan : Larut dalam air, praktis tidak larut dalam eter dan kloroform
- Penggunaan : Surfaktan
- Inkompaktibilitas: Bereaksi dengan surfaktan kationik, tidak sesuai dengan garam dari polivalen ion logam, seperti aluminium, timbal, timah, atau seng (Rowe et al., 2009).

### 2.10.5 Propilenglikol

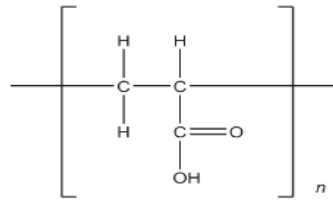


**Gambar 2.9** Struktur Kimia Propilen Glikol (Rowe et al., 2009).

Sinonim	: 1,2-Dihydroxypropane; E1520; 2 hydroxypropanol; methyl ethylene glycol; methyl glycol; propane-1,2-diol; propylenglycolum.
Pemerian	: Tidak berwarna, kental, praktis tidak berbau, cair, dengan rasa manis, rasa sedikit pedas menyerupai gliserin
Kelarutan	: Larut dengan aseton, kloroform, etanol (95%), gliserin, dan air; larut pada 1 : 6 bagian eter; tidak larut dengan minyak atau tetap minyak mineral ringan, tetapi akan larut beberapa minyak esensial.
Inkompaktibilitas	: Dengan bahan pengoksidasi seperti kalium permanganat
Penggunaan	: Humektan 1- 15%

Propilen glikol biasanya digunakan sebagai pelarut dan pengawet dalam berbagai formulasi farmasi. Ini adalah pelarut umum lebih baik dari gliserin dan melarutkan berbagai macam bahan, seperti kortikosteroid, fenol, obat sulfa, barbiturat, vitamin (A dan D), yang paling alkaloid, dan banyak anestesi lokal. Propilen glikol digunakan dalam berbagai macam formulasi farmasi dan umumnya dianggap sebagai bahan yang tidak beracun (Rowe et al., 2009).

### 2.10.6 Carbomer



**Gambar 2.10** Struktur Kimia Carbomer (Rowe et al., 2009).

Sinonim	: Carbopol, Acrylic Acid Polymer, polyacrylic acid, carboxyvinyl polymer, Karboksipolietilen.
Berat Molekul	: Karbomer adalah polimer sintetik dari asam akrilat yang mempunyai ikatan silang dengan ether allyl sucrose atau sebuah allil ethers dari pentaerythritol. Karbomer mengandung asam karboksilat antara 56%-68% pada keadaan kering. BM teoritis diperkirakan sekitar $7 \times 10^5$ hingga $4 \times 10^9$
Pemerian	: Serbuk putih, sedikit berbau khas, asam, higroskopik
Kelarutan	: Larut dalam air dan setelah netralisasi larut dalam etanol 95% dan gliserin
Inkompaktibilitas	: Dengan fenol, polimer kationik, asam kuat dan Elektrolit.
Penggunaan	: Gelling agent 0,5-2,0 % (Rowe et al., 2009).

### 2.11 Tinjauan Pengujian Antibakteri *In Vitro*

Uji kepekaan terhadap obat-obatan secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui obat antibakteri yang masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh mikroba tersebut. Uji kepekaan terhadap obat antibakteri pada dasarnya dapat dilakukan melalui tiga cara, yaitu :

1. Metode dilusi
2. Metode difusi cakram
3. Bioautografi

### 2.11.1 Metode dilusi

Metode dilusi adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui potensi suatu senyawa terhadap aktifitas mikroba dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) (Lennettedkk, 1991). Prinsip dari metode dilusi menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi dengan media cair dan sejumlah sel mikroba tertentu yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya masing-masing seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati perubahan yang terjadi yaitu kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih yang menandakan tidak ada kontaminan terhadap bakteri, yang menandakan cairan tersebut adalah obat KHM. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, lalu diinkubasikan dan esok harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen, 2003).

### 2.11.2 Metode difusi

Pada metode difusi, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam *agar plate* yang telah diinokulasikan dengan mikroba yang uji. Hasil pengamatan yang diperoleh berdasarkan pada zona hambatan yang terbentuk di sekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi (brooks et al, 2007). Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu :

#### 1. Metode Cakram Kertas (Disc)

Prinsip dari metode difusi cakram yaitu obat dijenuhkan kedalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media pembenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji, kemudian media diinkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen, 2003).

Untuk evaluasi hasil uji kepekaan, dapat dilakukan dengan 2 cara berikut :

1. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet dan resisten.
2. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara ini, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen, 2003).

Menurut Coyle (2005) aktivitas antibakteri oleh bahan aktif dikelompokkan menjadi 4 kategori sebagai berikut :

**Tabel II.3** Kategori Aktivitas Antibakteri oleh Bahan Aktif (Coyle, 2005)

Diameter zona hambat	Daya hambat
>20 mm	Sangat kuat
16 mm - 20 mm	Kuat
10 mm – 15 mm	Sedang
<10 mm	Lemah

Berikut prosedur Difusi Cakram menurut Lesmana (2006) :

Pembuatan biakan kuman (berumur 24 jam) yang telah murni dan telah diketahui identitasnya dalam 0,5 ml kaldu *Brain Heart Infussion* (BHI). Inkubasi pada suhu 35°C sampai mencapai kekeruhan yang sesuai dengan

1. standar Mc.Farland 0,5. Penyesuaian kekeruhan dilakukan dengan menambahkan larutan NaCl pada biakan kaldu. Terdapat cara lain yaitu dengan membuat suspensi kuman dari biakan pada lempeng agar non-selektif (*blood agar*) yang berumur 18-24 jam dalam larutan garam faal dan menyesuaikan kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5.
2. 15 menit setelah dilakukan penyesuaian kekeruhan, suspensi kuman diambil dengan menggunakan kapas lidi steril. Kapas lidi diputar

beberapa kali kemudian ditekan ke dinding bagian dalam tabung untuk menghilangkan kelebihan inokulum dari biakan kaldu.

3. Kapas lidi ditanam ke lempeng agar *Mueller Hinton Agar* dengan cara mengusapkannya pada seluruh permukaan lempeng agar. Prosedur tersebut dilakukan dengan memutar posisi lempeng agar-agar 60° seluruh permukaan terinokulasi rata.
4. Sejumlah cakram antibiotik disiapkan dan diletakkan satu demi satu di atas agar biakan secara manual. Setelah itu, cakram antibiotika diletakkan perlahan dengan pinset untuk memastikan seluruh permukaan bersentuhan sempurna dengan permukaan agar yang mengandung biakan.
5. Lempeng agar dibalik dan dalam waktu tidak lebih dari 30 menit diinkubasikan secara aerob pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
6. Hasil pengujian dibaca dengan mengukur zona hambatan yang diperlukan oleh biakan tersebut.

Kelebihan yang dimiliki metode cakram kertas adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium (Pelczar et al., 1988). Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode cakram kertas biasanya sulit untuk diinterpretasikan. Selain itu, metode cakram kertas ini tidak dapat diaplikasikan pada mikroorganisme yang pertumbuhannya lambat (Bonang, 1992).

## **2. Metode Parit (ditch)**

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang terbentuk di sekitar parit (Bonang, 1992).

### 3. Metode Sumuran (hole/cup)

Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Prayoga, 2013).

Berikut prosedur metode sumuran :

1. Siapkan Petridish dengan cara masing-masing bagian bawah Petridish dibagi menjadi 6 daerah. Tiap daerah diberi kertas label bertuliskan P5 (kadar PVA 5%), P10 (kadar 10%), P15 (kadar 15%), K(+) (kontrol positif), dan K(-) (kontrol negatif).
2. Pada setiap Petridish dituangkan media hangat sebanyak 25 ml.
3. Kemudian suspensi bakteri sebanyak 0,5 ml diinokulasikan pada media tersebut dan diaduk sampai merata dengan gigaskrin.
4. Setelah itu media dibiarkan memadat (media lempeng).
5. Pada setiap media lempeng yang telah diinokulasi bakteri dibuat 6 lubang sumuran di daerah K(-), K(+), P5, P10, P15, dengan diameter 5 mm dan kedalaman 4 mm menggunakan sedotan kaku sebagai pengganti borer steril.
6. Kemudian pada masing-masing lubang sumuran dimasukkan 5  $\mu$ L berbagai konsentrasi ekstrak, kontrol positif, dan negatif.
7. Selanjutnya media yang sudah diberi perlakuan dimasukkan desikator dan diletakkan dalam inkubator dengan suhu 37° C selama 24 jam.
8. Setelah itu, dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat, yaitu daerah jernih di sekitar lubang sumuran. Selanjutnya dengan menggunakan jangka sorong, zona hambat diukur diameternya.
9. Pengukuran dilakukan oleh 3 pengamat dan diambil rata-rata dari ketiganya (Dwiyanti R. D., Nurlailah, Widiningsih I. K., 2015; Kairupan C. P., Fatimawati, Lolo W. A., 2014; Multazami T. 2013; Nurdina Y. A.,



Praharani D., Ermawati T. 2012; Rachmawati I., Suranto., Setyaningsih R. 2006)

#### **4. Metode Bioautografi**

Metode bioautografi merupakan metode sederhana yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri atau antikapang. Metode ini menggabungkan penggunaan teknik kromatografi lapis tipis dengan respon dari mikroorganisme yang diuji berdasarkan aktivitas biologi dari suatu analit yang dapat berupa antibakteri, antikapang, dan antiprotozoa (Choma, 2010).

Bioautografi merupakan metode paling efisien untuk mendeteksi komponen senyawa antimikroba, sebab dapat melokalisasi aktivitas meskipun dalam senyawa aktif tersebut terdapat dalam bentuk senyawa kompleks dan dapat pula diisolasi langsung dari komponen yang aktif (Mustary et al., 2011).

Bioautografi dibagi menjadi 3, yaitu :

1. **Bioautografi kontak**  
Bioautografi kontak merupakan senyawa antimikroba yang dipindahkan dari lempeng KLT ke medium agar yang telah diinokulasikan bakteri uji secara merata dan dilakukan kontak langsung (Dewanjee et al., 2014).
2. **Bioautografi Langsung (Deteksi KLT)**  
Metode bioautografi langsung merupakan metode dimana mikroorganisme tumbuh secara langsung diatas lempeng KLT. Prinsip kerja dari metode ini adalah suspensi mikroorganisme uji dalam medium cair disemprotkan pada permukaan KLT dengan cara menghilangkan sisa-sisa eluen yang menempel pada lempeng kromatogram. Setelah itu di inkubasi pada suhu dan waktu tertentu (Dewanjee et al., 2014).
3. **Bioautografi Perendaman**
4. **Bioautografi perendaman** merupakan metode dimana medium agar yang telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri kemudian dituang di atas lempeng KLT. Pada metode ini lempeng kromatografi yang

telah diekspansi dan diletakkan dalam cawan petri, sehingga permukaan tertutup oleh medium agar yang berfungsi sebagai *base layer*. Setelah *base layer* memadat, dituangkan medium yang telah disuspensikan mikroba uji yang berfungsi sebagai *seed layer*. Kemudian di inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai (Dewanjee et al., 2014).

